

ヒト癌におけるp73 遺伝子変異は稀である

著者	カン 双印
号	1769
発行年	2001
URL	http://hdl.handle.net/10097/22155

氏 名（本籍）	韓 双 印
学 位 の 種 類	博 士（医 学）
学 位 記 番 号	医 博 第 1 7 6 9 号
学位授与年月日	平 成 13 年 3 月 26 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研 究 科 専 攻	東北大学大学院医学系研究科 （博士課程）外科学系専攻
学 位 論 文 題 目	Infrequent somatic mutations of the <i>p73</i> gene in human cancers (ヒト癌における <i>p73</i> 遺伝子変異は稀である)

(主 査)

論文審査委員	教授 松 野 正 紀	教授 堀 井 明
	教授 野 田 哲 生	教授 大 内 憲 明

論文内容要旨

目 的

細胞遺伝学および分子遺伝学的研究によりヒトの第1番染色体短腕(1p)には様々な腫瘍において高頻度の遺伝子欠失があることが見いだされています。このことは、1p領域にヒト癌に関与した癌抑制遺伝子が存在していることを強く示唆しています。*p73*は1p36.33から単離された遺伝子であり、*p53*癌抑制遺伝子と高い相同性をもったタンパク質をコードしています。ヒト癌における*p73*の遺伝子レベルでの変異について、(1)各種ヒト癌における*p73*遺伝子変異の頻度；(2)*p73*のヒト癌におけるアレル特異的発現パターン、この二つの観点から解析し、*p73*とヒト癌との関係を検討しました。

方 法

144症例の各種ヒト癌組織(乳癌47例、大腸癌43例、胃癌31例、神経芽細胞腫23例)と41種類のヒト癌細胞株(肺癌21株および膵臓癌20株)から抽出したDNAについて*p73*のコーディング領域およびエクソン-イントロン境界に関してPCR-SSCP法を行い、遺伝子変異の有無を調べました。その結果、認められた変異バンドに対して直接塩基配列決定法による塩基の変異の検索を行いました。41株のヒト癌細胞株のうち、*p73*のコーディング領域にヘテロ接合性が確認されたものについては遺伝的多型性を利用した*p73*のアレル特異的発現をRT-PCR法と直接塩基配列決定法によって行いました。

結 果

185例中、1例の乳癌において体細胞性ミスセンス変異(エクソン7のコドン269におけるCCGからCAG、アルギニンからグルタミンへの変化)が見つかりました。このミスセンス変異は、*p73*のDNA結合ドメインに存在し、*p73*のホモログである*p53*癌抑制遺伝子の癌における変異のホットスポット(コドン249、アルギニン)に対応しています。この他、コドン137, 336, 349, 610とイントロン6および8の中の塩基を含む6ヶ所に認められた塩基置換は遺伝的多型として報告のあったものでありました。イントロン9のAからGへの塩基置換は、18人の正常人の解析からA/Gの比率が16:20で、新たに見いだされた遺伝的多型であると思われました。2種類の膵臓癌細胞株(PCI-19, PCI-35)は、いずれもコドン349においてヘテロ接合性を示し、アレル特異的発現パターンの解析からPCI-19ではモノアレリックな発現が、PCI-35では不均等なバイアレリックパターンの発現が認められました。

考 察

本研究は185例のヒト癌の *p73* 遺伝子の遺伝子変異について解析しました。185例の中には、胃癌、大腸癌、乳癌、膵臓癌といった *p73* 遺伝子の遺伝子変異について未だ報告が無い癌も含まれています。本研究の結果により、*p73* の遺伝子変異は、ヒト癌において極めて低頻度であることが示されました。185例の大部分で1p36.33近傍のヘテロ接合性の消失が証明されていますが、今回、残存している *p73* アレルに遺伝子変異が殆ど認められないことから Knudson の two hit model に合致せず、*p73* は典型的な癌抑制遺伝子であるとは考えにくいと思われます。*p73* の正常細胞における発現パターンはモノアレルックであるという報告が以前になされています。この場合では、癌細胞において不活性化されていないアレルを喪失することだけで two hit が達成されている可能性も考えられます。しかし、PCI-35において不均等ながらバイアレルックパターンの発現が認められたことや、その他の報告においても *p73* のアレル特異的発現パターンには定見がなく、この可能性については更なる解析を要するものと思われます。

審 査 結 果 の 要 旨

ヒトの第1番染色体短腕(1p)には様々な腫瘍において高頻度の遺伝子欠失が認められている。このことから1p領域にはヒト癌の発生に関与した癌抑制遺伝子が存在すると考えられてきた。1997年、*p53* 遺伝子と高い相同性を有し、機能的にも類似性をもつ *p73* 遺伝子が1p36.33領域から単離・同定されたことから、この *p73* 遺伝子がヒトの発癌過程にどのように関与しているのかが注目されていた。本論文はヒト癌における *p73* 遺伝子の DNA レベルでの変異の有無とヒト癌における *p73* 遺伝子の発現パターンについて解析し、*p73* 遺伝子異常と発癌との関係を検討することを目的としている。

185種類のヒト癌組織とヒト癌細胞株を用いて PCR-SSCP 法により *p73* 遺伝子のコーディング領域およびエクソン-イントロン境界に関して遺伝子変異の有無を調べ、また、41種類のヒト癌細胞株については *p73* 遺伝子のアレル特異的発現を RT-PCR 法と直接塩基配列決定法によって解析している。その結果、乳癌の1例においてのみ体細胞性ミスセンス変異(コドン269における CCG から CAG, アルギニンからグルタミンへの変異)が見いだされた。本論文ではこのコドン269アルギニンおよびその周辺領域は、*p73* 遺伝子ホモログである *p53* や *p63* 遺伝子ときわめて相同性が高く、種を超えて保存されており、かつ *p53* 遺伝子では変異のホットスポットであることから発癌との関係を否定できないとしている。しかし、コドン137, 336, 349, 610とイントロン6および8の6ヶ所に認められた塩基置換は遺伝的多型であるとしている。この結果より、本論文ではヒト癌における *p73* 遺伝子の DNA レベルでの変異は極めて低頻度にしか認められないと結論している。ヒト癌における *p73* 遺伝子の発現パターンについては二種類の膀胱癌細胞株において解析可能であり、一株ではモノアレル的な発現を、他の一株では不均等なバイアレルパターンでの発現を認めたが、*p73* 遺伝子の発現パターンと発癌との関連には、定見が得られていない。本論文の研究により *p73* 遺伝子は、ヒト癌の発生に関して従来から知られている癌抑制遺伝子とは異なっていることが示された。

本論文はヒト癌において染色体異常が高頻度で認められる1p領域から見い出された候補癌抑制遺伝子、*p73* のヒト癌への関与を初めて系統的かつ大規模に検索しており、本学の学位を授与するに十分値するものであると思われる。